

# 行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

## 發展整合型的母幼鼠急性反應測試方法來檢測多氯聯苯 之毒性(1/3)

計畫類別：C 個別型計畫          整合型計畫

計畫編號：NSC89 - 2320 - B - 002 - 024

執行期間：88年8月1日至89年7月31日

計畫主持人：李美慧

協同主持人：郭育良 國立成功大學環境醫學研究所

許昺奇 國立高雄第一科技大學環境與安全衛生工程  
系

林維炤 嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：台灣大學地理環境資源學系

中 華 民 國 89年 10月 28日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 發展整合型的母幼鼠急性反應測試方法來檢測多氯聯苯之毒性 (1/3)

### Development of Female Rats Integrated Acute Responses Assay to Examine the Toxicity of PCB Congeners

計畫編號：NSC 89-2320-B-002-024

執行期限：88年8月1日至89年7月31日

主持人：李美慧 台灣大學地理環境資源學系

協同主持人：郭育良 國立成功大學環境醫學研究所

許昺奇 國立高雄第一科技大學環境與安全衛生工程系

林維炤 嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

#### 一、中文摘要

最近兩三年環境荷爾蒙對人及野生動物之影響受到各界重視，因此發展標準的測試環境荷爾蒙的方法乃為世界各先進國家的當務之急。本研究希望能發展出整合型的母幼鼠急性反應測試方法，不僅只是可檢測環境污染物所具有之雌性荷爾蒙特性，還可檢測出對肝臟酵素系統、甲狀腺素與神經系統之影響。第一年本研究是利用此生物測試系統檢驗多氯聯苯PCB 132 (2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl) 及PCB 149 (2,2',3,4'5'6-hexachlorobiphenyl) 是否有之雌性荷爾蒙特性及對肝臟酵素系統之影響。從研究結果發現PCB132及PCB149在測試的三個劑量下，都沒有造成母幼鼠的子宮重增加的情形。PCB132及PCB149對母幼鼠的肝臟P4501A酵素系統沒有影響。另外，PCB 149有增加母幼鼠的肝臟酵素P450 2B(PROD及BROD)活性的趨勢，在對母幼鼠的肝臟P450酵素系統影響是較類似PB-type inducer，與本研究原先的假說相符，即在聯苯結構的2,3,6位置含氯原子之多氯聯苯異構物，具有“不與戴奧辛類似”之毒性。

關鍵詞：

多氯聯苯、雌性荷爾蒙、肝臟酵素、母幼鼠、急性反應測試方法

#### Abstract

Recently, there is increasing public and scientific concern that some environmental pollutants may cause hormone disruption in human and wildlife. Therefore, there is an urgent need to develop an effective assay which can detect environmental hormone. In this study, an integrated bioassay which using acute responses of prepubertal female rats will be expanded and developed to examine effects of PCB 132 (2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl) and PCB 149 (2,2',3,4'5'6-hexachlorobiphenyl) on estrogenicity, hepatic enzyme activities, thyroxine, and brain dopamine as well as norepinephrine levels. First year of this project, it was focused to standardize the methods of the uterotrophic responses as well as hepatic enzyme activities. The result of this study showed that PCB 132 and PCB 149 did not produce any uterotrophic responses in prepubertal female rats at 8 mg/kg, 32 mg/kg and 96 mg/kg. PCB 132 and PCB 149 did not increase liver microsomal P450 1A enzyme activities of prepubertal female rats. However, there was an increase P450 2B activity at prepubertal

female rats administered PCB 149 at 96 mg/kg. It indicated that PCB 149 was a PB-type enzyme inducer. The toxic effects of 2,3,6-substituted PCB congeners were non-dioxin-like.

**Keywords:** Polychlorinated biphenyl, Estrogenic effects, Hepatic enzymes, Prepubertal female rats, Acute Response bioassay

## 二、計畫緣由與目的

環境荷爾蒙是指外來或人造化學物質當其進入生物體內會影響其內分泌系統，產生類似荷爾蒙的影響或是破壞干擾原有內分泌系統的平衡及功能，進而對生物的生長、發育、生殖等產生不良之影響。就目前相關研究資料顯示，許多常見農藥、工業化合物、環境污染物皆屬於環境荷爾蒙<sup>1</sup>。以農藥來說，如DDT、靈丹(Lindane)、巴拉松(Parathion)、地特靈(Dieldrin)、飛佈達(Heptachlor)、加保利(Carbaryl)、得滅克(Aldicarb)等。而工業化合物及環境污染物包括塑膠及洗潔劑中的物質、染料、phthalate、styrenes、戴奧辛(dioxin)、多氯聯苯(polychlorinated biphenyls)、鉛、汞、鎘等等。

多氯聯苯(polychlorinated biphenyl)是含有聯苯結構之分子，而在其聯苯的十個碳位置上，可鍵結氯或氫原子，因此排列組合不同數目的氯原子及不同位置，總共有209種異構物(congener)，為環境中常見之重要污染物。從1966年Jensen<sup>2</sup>報導多氯聯苯存在於環境中，至今已超過30年，其間發生過兩次人類多氯聯苯中毒事件，一次是1968年在日本發生Yusho中毒事件，一次是1979年在台灣發生米糠油中毒事件(Yu-Cheng)。在這30多年間有關多氯聯苯的研究非常之多，但是至今我們對多氯聯苯的毒性卻不是很清楚地了解<sup>3-5</sup>。造成此現象的原因主要有下列幾點：(1)多氯聯苯的毒性非常廣泛，包括影響肝臟功

能、荷爾蒙系統、神經系統、免疫系統、生殖系統、呼吸及消化系統等等<sup>3</sup>，一般的毒性研究常只是針對某項功能或系統進行觀察，因此無法完整了解其實際影響；(2)過去多氯聯苯的相關研究多僅限於“與戴奧辛類似”之毒性(dioxin-like effect)探討，忽略其他“不與戴奧辛類似”之毒性(non-dioxin-like effect)，如對荷爾蒙系統及神經系統之影響等；(3)集中於對某些特定的多氯聯苯異構物或是工業產品之混合物(像是美國Monsanto 化學公司所生產的Aroclor)之毒性研究，尤其是一些與“戴奧辛類似”毒性之異構物(如coplanar congeners)，而忽略對其他常出現在環境中的多氯聯苯異構物之毒性研究。

針對上述之問題，本研究將從下列幾個角度來探討多氯聯苯異構物的毒性，以改善目前多氯聯苯毒性研究上的缺失，以便能更正確地評估或預測多氯聯苯之可能毒害。(1)考慮生物體內不同的交互作用，同時檢測多氯聯苯對生物體內不同系統之可能影響，而非只是就單一類系統進行觀察；(2)選擇常在環境中出現且目前並無其毒性資料的重要多氯聯苯異構物進行研究，以增加對多氯聯苯異構物毒性的新資料；(3)同時探討“與戴奧辛類似”之毒性與“不同與戴奧辛”之毒性，以避免一些常被遺漏之毒性測量。另外，最近兩三年環境荷爾蒙(尤其是模擬(mimic)女性荷爾蒙(estrogen)之物質)對人及野生動物之影響受到各界重視，以美國為例，美國國會要求其環保署與相關單位在1998年8月前要發展出相關的測試環境荷爾蒙之方法與策略，以便於1999年8月能制定相關法令來要求執行測試環境污染物質<sup>6</sup>。因此發展標準的測試環境荷爾蒙的方法乃為世界各先進國家的當務之急。而本研究希望能發展出整合型的生物測試方法，不僅只是可檢測雌性荷爾蒙特性(estrogenicity)，還可檢測出對肝臟酵素系統、甲狀腺素、神經系統之影響，只要能標準化本測試動物模式，證明其有效性及敏感性，將會受到國際間

的重視及採用。

本研究目的是希望利用幼母鼠之急性反應(acute response)來檢驗多氯聯苯PCB 132 (2,2',3,3',4,6'- hexachlorobiphenyl) 及 PCB 149 (2,2',3,4',5',6 -hexachlorobiphenyl)對肝臟酵素系統及雌性荷爾蒙系統之影響，並進而發展出整合型的生物測試方法測試環境中常見污染物質之毒性。

本研究是建立在下列三個假說：

1. 利用母幼鼠之急性反應可有效地檢測出環境毒物是否具雌性荷爾蒙特性以及對肝臟酵素系統、甲狀腺素、神經系統之影響。
2. 在聯苯結構的2,3,6位置含氯原子之多氯聯苯異構物，具有“不與戴奧辛類似”之毒性。
3. 毒物於生物體內產生毒性之主要機制，乃是藉由與體內之分子或受體結合(receptor-binding)而產生其影響，因此左旋與右旋的不同空間異構物，其與體內之分子或受體結合能力將會不同，而其毒性也有差異。

### 三、結果與討論

**雌性荷爾蒙特性：**本研究所檢測的PCB 132及PCB 149對母幼鼠的子宮重沒有影響(表一及表二)。三個劑量都沒有造成母幼鼠的子宮重增加的情形。

**肝臟酵素系統：**PCB 132及PCB 149對母幼鼠的肝臟酵素P450 1A(EROD)活性沒有影響(表三及表四)，顯示PCB 132及PCB 149不具有與戴奧辛類似之毒性。PCB 132及PCB 149有增加母幼鼠的肝臟酵素P450 2B(PROD及BROD)活性的趨勢(表三及表四)，尤其是在96 mg/kg劑量下，BROD的活性是統計上顯著高於控制組(P 0.05)，約為控制組的三倍。另外，PCB 132及PCB 149對母幼鼠的肝臟UDPGT酵素活性沒有影響(表五及表六)。從本研究結果顯示PCB 132及PCB 149在對母幼鼠的肝臟P450 酵素系統影響是較類似PB-type inducer，與本研究原先的假說相符，即在

聯苯結構的2,3,6位置含氯原子之多氯聯苯異構物，具有“不與戴奧辛類似”之毒性。

### 四、計畫成果自評

#### 達成預期目標情況：

本研究已達到第一年預期完成之工作項目：

1. 建立母幼鼠急性反應之生物測試法，以檢驗環境污染物的對肝臟酵素活性之影響及是否具女性荷爾蒙特性。
2. 了解PCB 132與PCB 149對肝臟酵素活性之影響及是否具女性荷爾蒙特性。

**論文發表：**目前研究成果正在撰寫為英文論文，預計將會投稿到國際期刊上。

### 五、參考文獻

1. Colborn, T., Vom Saal, F.S., and Soto, A.M. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.* 101: 378-384.
2. Jensen, S. 1966. Report of a new chemical hazard. *New Scientist* 32:612.
3. Li, M.H. and Hansen, L.G. 1997. Consideration of enzyme and endocrine interactions in the risk assessment of PCBs. *Rev. in Toxicol.* 1:71-156.
4. Wolff, M.S., Camann, D., Gammon, M., Stellman, S.D. 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. *Environ. Health Perspect.* 105:13-14.
5. Hansen, L. G. 1998. Stepping backward to improve assessment of PCB congener toxicities. *Environ. Health Perspect.* 106: 171-189.
6. Patlak, M. 1996. A testing deadline for endocrine disrupters. *Environ. Sci. Technol.* 30: 540A-544A.

Table 1. Uterotropic responses in prepubertal female rats administered PCB 132.

Treatment	Dose (mg/kg)	n	Body weight at Day 24 (g)	Uterine weight (mg)
Control	0	7	50.86 ± 2.09	34.59 ± 2.63
PCB 132	8	5	48.10 ± 2.62	30.90 ± 2.88
	32	5	50.08 ± 1.31	28.94 ± 3.31
	96	5	51.78 ± 2.34	34.70 ± 4.85
Estradiol	0.04	5	52.40 ± 1.07	42.52 ± 3.50

Table 2. Uterotropic responses in prepubertal female rats administered PCB 149

Treatment	Dose (mg/kg)	n	Body weight at Day 24 (g)	Uterine weight (mg)
Control	0	5	54.20 ± 1.55	41.02 ± 6.88
PCB 149	8	5	52.90 ± 3.26	37.04 ± 9.23
	32	5	54.00 ± 2.21	38.46 ± 4.35
	96	5	55.80 ± 1.84	38.36 ± 3.80
Estradiol	0.04	6	52.75 ± 0.94	42.20 ± 6.88

Table 3. Liver microsomal enzyme activities (mean ± SE) in prepubertal female rats administered PCB 132.

Treatment	Dose (mg/kg)	n	EROD (nmol resorufin formed/min/mg/protein)	PROD	BROD
Control	0	7	0.704 ± 0.144	0.072 ± 0.009	0.040 ± 0.010
PCB 132	8	5	0.535 ± 0.116	0.095 ± 0.018	0.029 ± 0.009
	32	5	0.570 ± 0.030	0.107 ± 0.017	0.074 ± 0.018
	96	5	0.607 ± 0.115	0.106 ± 0.026	0.104 ± 0.035

Table 4. Liver microsomal enzyme activities (mean ± SE) in prepubertal female rats administered PCB 149.

Treatment	Dose (mg/kg)	n	EROD (nmol resorufin formed/min/mg/protein)	PROD	BROD
Control	0	5	0.735 ± 0.162	0.112 ± 0.022	0.058 ± 0.019 <sup>A1</sup>

PCB 149	8	5	0.937 ± 0.145	0.122 ± 0.017	0.087 ± 0.017 <sup>A,B</sup>
	32	5	0.817 ± 0.071	0.160 ± 0.025	0.118 ± 0.018 <sup>A,B</sup>
	96	5	0.868 ± 0.114	0.171 ± 0.028	0.182 ± 0.041 <sup>B</sup>

<sup>1</sup>Values within a column with different superscripts are significantly different by Tukey's multiple comparison test (P 0.05).

Table 5. UDPGT activities in prepubertal female rats administered PCB 132.

Treatment	Dose (mg/kg)	n	4-NP UDPGT (nmol substrate disappearing/min/mg protein)	PP UDPGT
Control	0	7	4.75 ± 0.84	1.88 ± 0.32
PCB 132	8	5	5.16 ± 1.11	1.77 ± 0.60
	32	5	4.33 ± 1.17	1.68 ± 0.49
	96	5	3.41 ± 0.82	1.32 ± 0.37

Table 6. UDPGT activities in prepubertal female rats administered PCB 149

Treatment	Dose (mg/kg)	n	4-NP UDPGT (nmol substrate disappearing/min/mg protein)	PP UDPGT
Control	0	5	5.54 ± 1.55	2.24 ± 0.26
PCB 149	8	5	4.36 ± 3.26	1.69 ± 0.07
	32	5	3.89 ± 2.21	1.74 ± 0.30
	96	5	4.96 ± 0.94	1.93 ± 0.27